

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO
D.G.P.I. - UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE

N. 01244459

Il presente brevetto viene concesso per l'invenzione oggetto della domanda sotto specificata:

<i>num. domanda</i>	<i>anno</i>	<i>U.P.I.C.A.</i>	<i>data pres. domanda</i>	<i>classifica</i>
022309	90	MILANO	06/12/1990	A-61K

TITOLARE MAROLDA LUCA
A MILANO
RIGHI PATRIZIA
A CREMONA

RAPPR. TE GERVASI GEMMA

INDIRIZZO NOTARBARTOLO & GERVASI SRL
V.LE BIANCA MARIA 33
20100 MILANO

TITOLO COMPOSIZIONE TERAPEUTICA PER IL TRATTAMENTO
DI MALATTIE DELLA PELLE QUALI VITILIGINE,
ACNE, PSORIASI, ALOPECIA, IPOTRICOSI

INVENTORE MAROLDA LUCA
RIGHI PATRIZIA

Roma, 15 LUGLIO 1994

IL DIRIGENTE
(GIOVANNA MORELLI)

N. 22309 Reg.A/90

ALLEGATO A

Rettifica alla domanda di brevetto n. 22309 Reg.A/90 depositata il
6 Dicembre 1990, contenuta in n. 30 (trenta) Postille, depositata
il

24 APR. 1991

ELENCO POSTILLE

POSTILLA 1 - Nel prospetto A, sezione L. RIASSUNTO, Sostituire le righe 2-5 con quanto segue: "per il trattamento di malattie della pelle quali vitiligine, acne, psoriasi, alopecia ipotricosi, costituite da uno o più oli di origine animale scelti tra olio di fegato di merluzzo, olio di visone ed olio di tartaruga contenenti disciolti o dispersi in essi litio, zinco, rame ed eventualmente oro, argento, zolfo, selenio silicio".

POSTILLA 2 - Pag. 2 - Modificare le righe 9-10 come segue: "sommministrabili per via topica per il trattamento di malattie della pelle quali vitiligine, acne, psoriasi alopecia ipotricosi".

POSTILLA 3 - Pag.3 - Dopo la riga 4 inserire quanto segue: "L'acne è una patologia della pelle molto frequente che colpisce circa il 40% della popolazione le cui cause possono essere sia di tipo ormonale che di tipo psicogeno. La psoriasi è invece una dermatosi eritemato squamosa, l'incidenza della psoriasi nella popolazione in generale oscilla tra lo 0.1% ed il 3%, pur essendo estremamente variabile tra i vari gruppi etnici. Dal punto di vista morfologico può presentarsi sotto vari aspetti, infatti le manifestazioni cliniche possono essere di diversa natura variando dalla forma a placche, eruttiva, pustolosa,

generalizzata, nummulare, oppure localizzate in particolari regioni corporee (es. cuoio capelluto) o arti superiori ed inferiori (mani e piedi) e viene definita acrodermatite di Hallopeau.

Si intende per alopecia una assenza di peli o di capelli e per ipotricosi una loro rarefazione a livello di cuoio capelluto o della barba se si tratta di pazienti di sesso maschile, ma può verificarsi anche in altri distretti corporei ricoperti da peli, non sono certo note tutte le cause di alopecia, per cui è difficile fare una classificazione in base ad un criterio etiologico. Prescindendo quindi dalle alopecie cicatriziali (su base traumatica), le alopecie più frequentemente riscontrate, sono l'alopecia areata, e le alopecie androgenetiche sia maschili che femminili.

La prima si presenta come una chiazza alopecica unica o multipla di forma ovulare o rotondeggiante caratterizzata dall'assenza di peli con cute sottostante liscia o biancastra".

POSTILLA 4 - Pag. 4 - Righe 7-12 - Modificare come segue:

"I Richiedenti hanno ora inaspettatamente trovato che è possibile curare le suddette malattie della pelle in modo efficace mediante somministrazione topica di metalli scelti tra Cu, Li, Zn, ed eventualmente Au ed Ag, S, Se, Si, disciolti o dispersi in un olio di origine animale o



nel corrispondente estere alchilico scelto tra olio di visone, olio di tartaruga olio di fegato di merluzzo o loro miscele".

POSTILLA 5 - Pag. 4 - Cancellare le righe 13-17.

POSTILLA 6 - Pag. 4 - Righe 19-20 - Modificare come segue:

"ottenuti quando oltre al litio al rame ed allo zinco sono presenti anche argento, oro, ed eventualmente zolfo, selenio, silicio".

POSTILLA 7 - Pag. 5 - Dopo la riga 11 inserire quanto segue:

"S 10^{-3} - 0.2 mg/ml di olio o di miscela oleosa,

Se $3 \cdot 10^{-5}$ - 0.2 mg/ml di olio o di miscela oleosa,

Si $1.6 \cdot 10^{-3}$ - 3.1 mg/ml di olio o di miscela oleosa".

POSTILLA 8 - Pag. 6 - Righe 21-25 - Modificare come segue:

"Le composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione possono essere sottoforma di unguenti oppure di pomate e possono anche contenere eventualmente altri componenti quali ad esempio olio di vaselina, olio di cocco raffinato, eccipienti tensioattivi, ecc.".

POSTILLA 9 - Pag. 7 - Righe 2-5 - Modificare come segue:

"I Richiedenti hanno inoltre trovato che si ottengono migliori risultati per la cura delle malattie anzidette se l'applicazione della composizione farmaceutica secondo la presente invenzione è abbinata ad un trattamento

fototerapico".

POSTILLA 10 - Pag.7 - Dopo la riga 5 inserire quanto segue:

"Per il trattamento della vitiligine vengono preferibilmente utilizzate le composizioni oggetto della presente invenzione contenenti in particolare Cu, Zn, Li, Au, ed Ag.

Infatti con tali composizioni anche dopo un trattamento breve si osserva subito la ripopolazione di aree vitiliginose da parte di melanociti morfologicamente e funzionalmente normali.

Per il trattamento dell'acne composizioni terapeutiche particolarmente efficaci si sono mostrate quelle che preferibilmente contengono Cu, Zn, Li, Au, Ag, S, Si.

Infatti con tali composizioni si è potuto notare la completa scomparsa di tutte le manifestazioni acneiche e la completa restitutio ad integrum della pelle nel giro di poche settimane.

Per il trattamento della psoriasi si sono rivelate particolarmente efficaci quelle composizioni terapeutiche secondo la presente invenzione contenenti Cu, Zn, Li, Au, Ag, S e Se.

Si è addirittura notato che con poche applicazioni di tali composizioni la scomparsa della componente squamosa,

nonché dopo avere ultimato il trattamento una netta rimissione della sintomatologia.

Per quanto riguarda il trattamento della alopecia ed ipotricosi, composizioni terapeutiche particolarmente efficaci si sono rivelate quelle contenenti Cu, Li, Zn, Au, Ag e S. Infatti con tale tipo di composizioni nel giro di breve tempo si è potuta

riscontrare la ricrescita di peli terminali perfettamente pigmentati ed alla fine del trattamento la alopecia era stata definitivamente debellata".

POSTILLA 11 - Pag. 9 - Riga 12 - Dopo:

"Zn 1.4 . 10^{-3} " inserire: "mg/ml".

POSTILLA 12 - Pag. 9 Riga 13 - Dopo:

"Li 2 . 10^{-3} " inserire: "mg/ml".

POSTILLA 13 - Pag. 9 - Riga 14 - Dopo:

"Cu 3 . 10^{-4} " inserire: "mg/ml".

POSTILLA 14 - Pag. 9 - Riga 15 - Dopo:

"Au 2 . 10^{-5} " inserire: "mg/ml".

POSTILLA 15 - Pag. 9 - Riga 16 - Dopo:

"Ag 2 . 10^{-6} " inserire: "mg/ml".

POSTILLA 16 - Pag. 9 - Dopo riga 16 inserire quanto segue:

"Composizione 3

In modo analogo a quanto descritto per la composizione 1 è stata preparata la composizione 3, contenente gli oligoelementi nelle seguenti concentrazioni:

Zn	1.4	.	10^{-3}	mg/ml
Li	2	.	10^{-3}	mg/ml
Cu	3	.	10^{-4}	mg/ml
Au	2	.	10^{-5}	mg/ml
Ag	2	.	10^{-6}	mg/ml
S	2	.	10^{-3}	mg/ml
Si	3.1	.	10^{-2}	mg/ml

Composizione 4

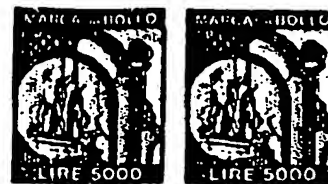
In maniera analoga a quanto descritto per la composizione 1 è stata preparata la composizione 4 contenente gli oligoelementi nelle seguenti concentrazioni:

Zn	1.4	.	10^{-3}	mg/ml
Li	2	.	10^{-3}	mg/ml
Au	2	.	10^{-5}	mg/ml
Ag	2	.	10^{-6}	mg/ml
S	2	.	10^{-3}	mg/ml
Se	2	.	10^{-3}	mg/ml

Composizione 5

In maniera analoga a quanto descritto per la composizione 4 è stata preparata la composizione 5 contenente gli oligoelementi nelle seguenti concentrazioni:

Zn	1.4	.	10^{-3}	mg/ml
----	-----	---	-----------	-------



Li	2	.	10^{-3}	mg/ml
Cu	3	.	10^{-4}	mg/ml
Au	2	.	10^{-5}	mg/ml
Ag	2	.	10^{-6}	mg/ml
S	2	.	10^{-3}	mg/ml".

POSTILLA 17 - Pag. 9 - Dopo la riga 17, inserire:

"A) - VITILIGINE".

POSTILLA 18 - Pag. 18 - Riga 7 - Dopo: "mostra"
correggere: "argenta affinità" in "argentaaffinità".

POSTILLA 19 - Pag. 21 - Dopo la riga 23 inserire quanto
segue:

"B) - ACNE -

Sono stati trattati 15 casi di acne di varia origine
(Vulgaris, acne cistica, o conglobate, acne di Maiorca,
steroidi topici etc.). con la composizione 3.

In particolare è stata studiata la paziente R.B. di anni
17 che presentava acne vulgaris con presenza di papule,
pustole, comedoni, è stata trattata con la composizione 3
e fototerapia con frequenza trisettimanale per due
settimane.

Dopo questo periodo si è potuto notare la scomparsa di
tutte le manifestazioni acneiche e la restitutio ad
integrum della cute.

C) - PSORIASI -

Sono stati trattati 10 casi presentanti psoriasi nelle sue diverse manifestazioni cliniche con la composizione 4. In particolare è stato preso in esame il paziente B.A. di anni 35 che manifestava psoriasi generalizzata in fase eritrodermica (90% della superficie corporea). Sono state praticate su questo paziente 15 sedute di fototerapia al fine di accelerare i tempi di guarigione con frequenza bisettimanale, applicando il composto solamente nelle chiazze psoriasiche. Si è notato che dopo 5 applicazioni il soggetto presentava la scomparsa della componente squamosa, non che dopo avere ultimato il numero delle sedute, una netta remissione della sintomatologia. Dopo controlli a distanza (ogni 3 mesi) il paziente non ha avuto recidive se non dopo 1 anno, ma solo in regioni tipiche della psoriasi ovvero gomiti e ginocchia.

D) - ALOPECIA IPOTRICOSI -

Sono stati presi in considerazione 10 pazienti presentanti alopecia del cuoio capelluto. In particolare è stata trattata una paziente, S.I. di 12 anni che aveva una grossa alopecia areata del cuoio capelluto di 10 cm di lunghezza e 6 di larghezza; il trattamento cui è stata sottoposta la paziente consiste in un trattamento con la composizione 5 associato a fototerapia con frequenza trisettimanale per tre settimane e si è potuto constatare una netta ricrescita di peli terminali perfettamente

pigmentati a controlli successivi ed alla fine del trattamento l'alopecia era stata definitivamente debellata".

POSTILLA 20 - Pag. 22 - Modificare le righe 1-5 come segue:

"delle malattie della pelle quali vitiligine, acne, psoriasi, alopecia, ipotricosi, dette composizioni essendo costituite da un olio di origine animale scelto tra scelto tra olio di fegato di merluzzo, olio di visone, olio di tartaruga o loro miscele contenenti dispersi o disciolti in essi i seguenti elementi:

litio, rame, zinco ed eventualmente oro, argento, zolfo, selenio e silicio".

POSTILLA 21 - Pag. 22 - Righe 7-8 Modificare come segue:

"caratterizzate dal fatto che contengono anche oro, argento ed eventualmente zolfo, selenio e silicio".

POSTILLA 22 - Pag. 22 - Riga 18 - Cancellare: "per il trattamento della vitiligine".

POSTILLA 23 - Pag. 22 - Modificare le righe 20-21 come segue:
"degli elementi nell'olio o nella miscela oleosa è compresa".

POSTILLA 24 - Pag. 23 - Dopo la riga 1 inserire quanto segue:

$S \ 1.10^{-3} - 0.2$	mg/ml di olio o di miscela oleosa,
$Se \ 3.10^{-5} - 0.2$	mg/ml di olio o di miscela oleosa.

Si $1.6 \cdot 10^{-3}$ -3.1 mg/ml di olio o di miscela oleosa".

POSTILLA 25 - Pag. 23 - Riga 11 - Dopo: "farmaceutiche"
cancellare: "per il trattamento della vitiligine".

POSTILLA 26 - Pag. 23 - Riga 19 - Dopo: "farmaceutiche"
cancellare: "per il trattamento della vitiligine".

POSTILLA 27 - Pag. 24 - Cancellare le rivendicazioni 15 e
16.

POSTILLA 28 - Pag. 24 - Riga 22 Inserire la seguente
rivendicazione:

"16. Le composizioni terapeutiche secondo la
rivendicazione 1 per il trattamento della vitiligine
caratterizzato dal fatto che contengono Li, Cu, Zn, Ag ed
Au".

POSTILLA 29 - Pag. 24 - Riga 23 - Correggere: "17" in:
"15".

POSTILLA 30 - Pag. 24 - Dopo la rivendicazione "16"
inserire le seguenti rivendicazioni:

"17. Le composizioni terapeutiche secondo la
rivendicazione 2 per il trattamento dell'acne
caratterizzate dal fatto che contengono Cu, Zn, Li, Au,
Ag, S, Si.

18. Le composizioni terapeutiche secondo la rivendicazione
2 per il trattamento della psoriasi caratterizzate dal
fatto che contengono Cu, Zn, Li, Au, Ag e Se.



19. Le composizioni terapeutiche secondo la rivendicazione
2 per il trattamento della alopecia caratterizzate dal
fatto che contengono Cu, Zn, Li, Ag, Au e S".

(ASE/tg/sa)

Milano 11 24 APR. 1991.

24

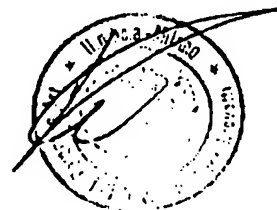
P. MAROLDA LUCA e

RIGHI PATRIZIA

Il Mandatario


DR. GEMMA GERVASI della

NOTARBARTOLO & GERVASI S.r.l.



PROSPETTO A

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA L REG. A

DATA DI DEPOSITO L.../L.../L....

NUMERO BREVETTO L I

DATA DI RILASCIO L.../L.../L....

B. TITOLO

Composizione terapeutica per il trattamento di malattie della pelle quali vitiligine, acne, psoriasi, alopecia, ipotricosi.

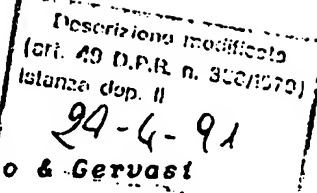
L. RIASSUNTO

Vengono descritte composizioni farmaceutiche somministrabili per via topica per il trattamento di malattie della pelle quali vitiligine, acne, psoriasi, alopecia, ipotricosi, costituite da uno o più oli di origine animale scelti tra olio di fegato di merluzzo, olio di visone ed olio di tartaruga contenenti disciolti o dispersi in essi litio, zinco, rame ed eventualmente oro, argento, zolfo, selenio silicio.

M. DISEGNO

Old.1

Notarbartolo & Gervasi



Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo:

Composizioni terapeutiche per il trattamento della vitiligine.

a nome di MAROLDA Luca, residente a Milano e

RIGHI Patrizia, residente a Cremona

Inventori designati: MAROLDA Luca e RIGHI Patrizia

depositata il 6 DIC. 1990 con il n.

22809A/90

La presente invenzione riguarda composizioni terapeutiche somministrabili per via topica per il trattamento della vitiligine.

La vitiligine è un'alterazione del sistema di pigmentazione, causato dalla scomparsa di melanociti in aree cutanee caratteristiche.

La patogenesi di tale malattia rimane tuttora oscura, sebbene un intenso lavoro di ricerca in questo senso sia stato compiuto in questi ultimi decenni.

Infatti il preciso meccanismo di scomparsa dei melanociti con il risultato della perdita del colore della pelle è un enigma.

Si è ipotizzato che fattori immunologici chimici, genetici o neurali potessero causare l'insorgenza di tale malattia.

Inoltre non è ancora chiaro se la Vitiligine è una malattia specifica e con specifica patogenesi o se la perdita di melanociti è la conseguenza dell'insorgenza di più malattie.

In ogni caso la vitiligine colpisce entrambi i sessi con una incidenza valutata tra l'1 e il 5% a seconda delle popolazioni

generale ed al momento non sono noti trattamenti terapeutici efficaci in grado di diminuire le zone cutanee depigmentate, nè tantomeno esistono terapie in grado di sconfiggere questo tipo di malattia.

E' altronde noto che molti enzimi contengono nella loro molecola oppure funzionano solo in presenza di piccole quantità di ioni metallici che per questo vengono definiti oligometalli.

Il più noto tra i vari oligoelementi che sono presenti negli enzimi o che li attivano è certamente il Ferro che fa parte integrante dell'Eme ed è inoltre presente in numerosi enzimi come ad esempio la citocromoossidasi, la perossidasi, la catalasi.

Un altro oligoelemento importante è il rame che condiziona la corretta utilizzazione del ferro da parte dell'organismo.

Inoltre esso è anche presente nella Lisina ossidasi ed è interessato nel metabolismo del collagene e dell'elastina .

Lo Zinco è un altro oligoelemento pressochè ubiquitario in quanto è presente in circa 100 enzimi tra i quali i più importanti sono la deidrogenasi NAD, e NADP, la polimerasi DNA e RNA, la anidrase carbonica e la carbossi peptidasi.

Pertanto gli oligoelementi così importanti da un punto di vista biochimico hanno anche un importante ruolo terapeutico.

La oligoterapia è la branca della medicina che si occupa del trattamento di varie malattie mediante gli oligoelementi.

Molte malattie della pelle sono state trattate mediante somministrazione orale di alcuni oligoelementi, dando dei buoni

risultati.

Ad esempio la psoriasi è stata curata per somministrazione di Zinco, oppure di sali di Li, Cu-Au-Ag ed inoltre zolfo.

Gli stessi sali di Li, Cu-Au-Ag assieme a trattamenti con zolfo vengono usati per il trattamento di neurodermiti, ovvero di disturbi cutanei su base neurologica.

I Richiedenti hanno ora inaspettatamente trovato che è possibile curare la vitiligine in modo efficace mediante somministrazione topica di metalli Cu, Li e Zn, ed eventualmente Au ed Ag disciolti o dispersi in un olio di origine animale o nel corrispondente estere alchilico scelti tra olio di visone, olio di tartaruga olio di fegato di merluzzo o loro miscele.

In particolare i Richiedenti hanno riscontrato che con le composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione anche dopo un trattamento breve si osserva subito la ripopolazione delle aree vitiliginee da parte di melanociti morfologicamente e funzionalmente normali.

I Richiedenti hanno inoltre trovato che i migliori risultati sono ottenuti quando oltre al litio al rame ed allo zinco sono presenti anche argento ed oro.

I metalli sono generalmente presenti nelle composizioni farmaceutiche, sotto forma di sali, di complessi o sotto forma di metallo colloidale.

Preferibilmente vengono utilizzati i seguenti sali: solfato di rame, lattato di argento, solfito di oro e sodio, solfato o

gluconato di zinco e di litio e di rame.

Generalmente la concentrazione dei singoli metalli nelle composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione è compresa nei seguenti intervalli nell'olio o nella miscela di oli:

Zn $7 \cdot 10^{-4}$ - 0.387 mg/ml di olio o di miscela oleosa,

Li 10^{-4} - 6.2 mg/ml di olio o di miscela oleosa,

Cu 10^{-6} - 0.264 mg/ml di olio o di miscela oleosa,

Au $3 \cdot 10^{-8}$ - $3.5 \cdot 10^{-3} \text{ mg/ml}$ di olio o di miscela oleosa,

Ag $3 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-3} \text{ mg/ml}$ di olio o di miscela oleosa,

Preferibilmente la concentrazione dello zinco è compresa tra 10^{-3} e $7.7 \cdot 10^{-2} \text{ mg/ml}$ di olio o di miscela oleosa, la concentrazione del litio è compresa tra $1.5 \cdot 10^{-3}$ e 10^{-2} mg/ml di olio o di miscela oleosa, la concentrazione del rame è compresa tra 10^{-5} e $5 \cdot 10^{-4} \text{ mg/ml}$ di olio o di miscela oleosa, la concentrazione dell'oro è compresa tra $2 \cdot 10^{-6}$ e $4 \cdot 10^{-5}$, la concentrazione dell'argento è compresa tra 10^{-6} e 10^{-4} mg/ml .

Preferibilmente i metalli sotto forma di sali, di complessi o di colloidi vengono aggiunti all'olio o alla miscela dei suddetti oli sotto forma di una soluzione acquosa.

La soluzione acquosa è pertanto preferibilmente presente in concentrazioni comprese tra il 3 e l'8%, più preferibilmente è il 5% in peso rispetto al peso della composizione farmaceutica totale.

Oli olii animali utilizzati nelle composizioni farmaceutiche

ed in particolare l'olio di visone che viene abitualmente utilizzato in cosmetica hanno in comune le seguenti caratteristiche:

sono naturali, non sono tossici, sono facilmente assorbiti dall'epidermide, si spalmano facilmente sulla pelle e sono stabili.

Nelle composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione essi vengono utilizzati come vettori criticamente essenziali dei metalli al fine di ottenere l'effetto terapeutico desiderato. Buoni risultati vengono ottenuti quando i metalli sono dispersi in uno solo dei tre oli citati o in una miscela che ne contiene solo due, ma i migliori risultati sono conseguiti quando i metalli sono dispersi in una miscela contenente tutti e tre gli oli ed una composizione farmaceutica preferita tra le ultime citate è quella in cui i tre oli sono presenti tra di loro in rapporto volumetrico 1:1:1.

Al posto degli olii possono essere impiegati i relativi esteri alchilici, e preferibilmente gli esteri etilici.

Tali esteri presentano infatti una elevata capacità e velocità di penetrazione cutanea rispetto ai corrispondenti olii.

Le composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione possono essere sottoforma di unguenti oppure di pomate e possono anche contenere eventualmente altri oligolementi come ad esempio lo zolfo il silicio e il selenio ed eventualmente anche altri componenti quali ad esempio olio di vaselina, olio di cocco

raffinato, eccipienti, tensioattivi ,ecc.

I Richiedenti hanno inoltre trovato che la ripigmentazione viene accelerata se l'applicazione della composizione farmaceutica secondo la presente invenzione è abbinata a un trattamento fototerapico viene notevolmente accelerata.

Vengono riportati a scopo illustrativo ma non limitativo alcuni esempi della composizione della presente invenzione.

Preparazione della composizione 1

1 ml di una fiala da 2 ml BIOLIGO^R 4 della SPECCHIASOL^R, e di una soluzione acquosa dei seguenti sali :

Solfato di Rame:	0.529	mg
pari a Rame:	0.21	mg
Lattato di Argento:	0.01	mg
pari a Argento:	0.006	mg
solfito di Oro e di Sodio :	0.003	mg
pari a Oro :	0.0014	mg

sono stati aggiunti a 2 ml di una soluzione acquosa di gluconato di Zinco in cui la concentrazione di ione Zinco è 0.175 mg/ml e a 2 ml di una soluzione acquosa di gluconato di Litio, in cui la concentrazione di ione Litio è 0.25 mg/ml.

La soluzione acquosa (5ml) così ottenuta viene dispersa in 95 ml di una miscela equivolumetrica di olio di visone olio di tartaruga e olio di fegato di merluzzo.

Le caratteristiche chimico fisiche degli olii utilizzati sono riportate nella seguente tabella:

TABELLA 1

OLI	Indice									
	Acidità	Indice Sapunif.	Indice	C12:0	C14:0	C14:1	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1 C18:2 C18:3
VISONE	0.20	200.3	69.5	0.11	2.83	0.80	13.89	18.44	3.74	42.66 18.37 1.09
TANTARICA	0.36	208.7	72.7	10.79	7.35	0.40	15.08	7.53	4.66	39.07 12.90 0.75
OLIO PEGATO DI SERVIZIO	0.10	188	165	-	9.06	0.27	21.45	10.78	4.68	20.31 7.67

Nel preparato farmaceutico così ottenuto la concentrazione degli oligoelementi è la seguente:

Zn	$3.5 \cdot 10^{-3}$	mg/ml
Li	$5 \cdot 10^{-3}$	mg/ml
Cu	$1.05 \cdot 10^{-5}$	mg/ml
Au	$7 \cdot 10^{-6}$	mg/ml
Ag	$5 \cdot 10^{-5}$	mg/ml

Composizione 2

In modo analogo a quello descritto per la composizione 1 è stata preparata la composizione 2, contenente i metalli nelle seguenti concentrazioni:

Zn	$1.4 \cdot 10^{-3}$
Li	$2 \cdot 10^{-3}$
Cu	$3 \cdot 10^{-4}$
Au	$2 \cdot 10^{-5}$
Ag	$2 \cdot 10^{-6}$

Descrizione della sperimentazione clinica

25 pazienti di entrambi i sessi sono stati sottoposti a trattamento topico, mediante applicazione settimanale della composizione 2, per una durata di tre mesi. I soggetti avevano una età compresa tra i 16 ed i 52 anni.

L'estensione della malattia era sensibilmente variabile e così pure il tempo trascorso dalla sua insorgenza.

Allo scopo infatti di valutare compiutamente l'efficacia del preparato si è deciso di includere nello studio sia i soggetti

con malattia recente, ovvero insorta da alcuni mesi, sia i soggetti con malattia avanzata, ovvero presente da anni e non responsiva ai trattamenti convenzionali.

Mentre infatti i casi recenti non si possono considerare pretrattati in senso proprio poiché sottoposti a tentativi sporadici ed infruttuosi, i casi avanzati avevano subito in precedenza diversi cicli di terapia che impiegava alternativamente preparati a base di acido retinoico oppure associazione di psoraleni e fototerapia.

I risultati dei suddetti tentativi erano stati tanto deludenti da indurre sia i pazienti che i loro curanti a decretarne l'interruzione.

L'estensione della malattia variava da una o due aree vitiligineose situate in regione mentoniera, al massivo interessamento segmentario degli arti superiori ed inferiori, nonché del tronco sulla linea mediana, del collo e, della regione dei genitali. Dovendo quantificare l'area di superficie interessata, la estensione osservata tra i casi trattati variava da 4 cm² a più del 90% della superficie corporea.

Lo schema di trattamento base prevedeva la applicazione topica della composizione 2, che veniva uniformemente distribuita sull'area depigmentata, seguito da una seduta di fototerapia sulla medesima area.

Tale schema veniva ripetuto per un massimo di tre sedute settimanali per quattro settimane. Successivamente per ottenere

un'accelerazione dell'effetto terapeutico, si è adottato il criterio di applicare quotidianamente il prodotto sulle zone depigmentate e di favorire l'esposizione alla luce solare delle suddette, pur continuando le usuali sedute di fototerapia mirata. Allo scopo di valutare la composizione terapeutica ottimale alcuni pazienti non inclusi nei 25 qui descritti, sono stati trattati per quattro settimane con preparati mancanti di uno o più degli elementi fondamentali già elencati.

Dopo il suddetto periodo il trattamento è stato interrotto e successivamente ripreso, dopo un intervallo necessario alla valutazione degli eventuali risultati terapeutici, secondo la modalità descritta ed impiegando il preparato completo.

In particolare si è osservato conducendo queste prove cliniche comparative che :

- a) l'assenza di uno o 2 dei tre olii animali (tartaruga, visone, olio di fegato di merluzzo rallentava notevolmente il processo di ripigmentazione;
- b) l'assenza di uno o due degli oligoelementi quali rame, zinco, e litio diminuisce abolisce del tutto l'effetto terapeutico.
- c) il preparato contenente i tre olii e gli oligoelementi Zn, Cu e Li, ma privo degli oligoelementi argento e oro, disponeva di un sensibile effetto terapeutico, tuttavia inferiore a quello del preparato che li includeva;
- d) la fototerapia e/o l'esposizione alla luce solare acceleravano notevolmente il processo di ripigmentazione, mentre l'impiego del

preparato da solo, o la sua applicazione su zone costantemente protette dalla esposizione alla luce, ne rallentavano i tempi di azione .

La ripigmentazione delle zone trattate con la sola composizione 2, cioè senza esposizione fototerapica avveniva più lentamente, ma presentava le stesse caratteristiche cliniche ed istologiche delle aree sottoposte a trattamento combinato.

I risultati ottenuti con il preparato definitivo possono essere pertanto così riassunti:

tenendo conto delle ovvie differenze biologiche individuali tra i singoli pazienti e dei diversi stadi di malattia considerati si è osservato che a tre mesi dall'inizio del trattamento le aree di depigmentazione di diametro minore compreso tra 2 e 4 cm si erano completamente ripigmentate. In questo caso la ripigmentazione è apparsa clinicamente avanzare sia dai bordi della lesione sia per confluenza dei nuclei di ripigmentazione centro lesionali.

Nel caso invece di vaste aree vitiliginose, ad esempio con depigmentazione completa a partire dalle falangi distali delle dita sino alla piega del gomito, la ripigmentazione ha seguito uno schema analogo con avanzamento del fronte di cute normopigmentata, tuttavia è apparsa particolarmente significativa, l'insorgenza di molteplici foci di ripigmentazione, clinicamente perifollicolari, con evoluzione verso la confluenza, sorti in zone nelle quali non sarebbe possibile la migrazione di melanociti da aree circostanti

normopigmentate.

In termini percentuali la risposta al trattamento è stata completa 100 %, poiché tutti i pazienti hanno mostrato un effetto terapeutico accertato con ricomparsa dei melanociti e del pigmento in aree da lungo affette da vitiligine. E' da rilevarsi inoltre che il processo di ripigmentazione segue a ritroso le tappe che hanno caratterizzato il progredire della malattia in ogni singolo paziente, infatti, le prime aree a ripigmentarsi sono quelle di recente formazione, mentre quelle di vecchia data intraprendono il processo di ripigmentazione più lentamente. L'entità della risposta individuale è invece naturalmente condizionata da tre fattori :

- a) la regolarità della applicazione del preparato,
- b) la frequenza del trattamento fototerapico o dell'esposizione alla luce solare in concomitanza con l'applicazione del preparato,
- c) la durata della terapia.

Per contro la sola esposizione alla luce solare o al trattamento fototerapico, ha indotto intenso eritema non seguito da ripigmentazione.

La intensa ripigmentazione osservata nei pazienti sottoposti a trattamento con la composizione 2, ha mostrato che la suddetta composizione è in grado di indurre la presenza di melanociti funzionanti in zone stabilmente depigmentate, già in periodi molto precoci della terapia, e comunque di ripigmentare in

percentuale elevata i singoli pazienti, già a partire dal terzo mese di terapia .

Indagine morfologica di campioni prelevati in 5 pazienti affetti da vitiligine ed in corso di trattamento con la composizione 2 e con terapia radiante.

E' stata condotta una indagine morfologica di campioni di pelle in 5 pazienti a solo tre mesi dall'inizio del trattamento con la composizione 2 e con terapia radiante.

In particolare sono state praticate biopsie mediante punch da 6 mm di diametro previa opportuna anestetizzazione e delicato stiramento perpendicolare alla direzione delle linee di tensione nella zona cutanea prescelta.

Come criterio generale è stata scelta la zona cutanea compresa nell'alone di eritema, presente in ogni paziente tra la chiazza vitiliginosa ed il margine neornormopigmentato.

Vengono riportate nella seguente tabella le caratteristiche (quali sesso ed età dei pazienti sottoposti a biopsia).

TABELLA

CASO N°	ETA'	SESSO
1	24	M
2	18	F
3	14	F
4	33	F
5	43	M

Ogni pezzo bioptico veniva subito diviso in due campioni

riservando la porzione maggiore per l'indagine istologica che veniva immediatamente fissata per immersione in una soluzione di formalina a pH neutro al 10 %. La restante parte del campione invece veniva ulteriormente sezionata in pezzetti di circa 1mm^3 e subito immersi in liquido di Karnowsky al fine di ottenere una fissazione adeguata alla indagine ultrastrutturale.

La porzione del campione riservata all'indagine in microscopia ottica veniva destinato per metà all'inclusione in metacrilato, e l'altra metà all'inclusione in paraffina.

Le sezioni in paraffina dello spessore 6/7 micron venivano colorate sia con ematossillina eosina (Em-Eos), sia con il metodo di Masson Fontana(M-F) che utilizza una soluzione di argento nitrato ammoniacale in grado di dimostrare l'agent'affinità della melanina la quale è in grado di ridurre i sali di argento con liberazione di argento metallico (di colore bruno nero) che si deposita a livello della sostanza riduttrice.

Le sezioni incluse in metacrilato dello spessore di 2 micron vengono colorate sia con Em-Eos, sia con la tecnica di Gomori per mezzo di una soluzione di argento-esametilendiammina(Ag-Met), capace di dimostrare l'argentaaffinità di granuli di melanina eventualmente presenti nel contesto di melanociti e dei cheratinociti presenti sulle sezioni.

I pezzettini sono stati processati secondo la normale routine per la microscopia elettronica a trasmissione.

In particolare i provini da sottoporre alla microscopia

elettronica dopo la fissazione in liquido di Karnovsky e lavaggi in tampone fosfato i campioni sono stati post- fissati in tetrossido di osmio e poi disidratati in una serie scalare di acetoni prima di essere inclusi in resina epossidica Araldite^R. Dopo polimerizzazione in stufa a 56°C per almeno una settimana, dai campioni veniva allestito un vetrino con sezioni semifini (dello spessore di 1 micron), e colorate con blu di metilene e safranina al fine di scegliere il miglior campo per l'indagine ultrastrutturale. Per ogni caso sono stati così allestiti 5 campioni.

Infine dopo avere tagliato con l'ultramicrotomo, usando lama di diamante le sezioni ultrafini, queste ultime venivano colorate con sali di metalli pesanti prima di essere osservate al microscopio elettronico.

MICROSCOPIA OTTICA

Le caratteristiche citomorfologiche dei melanociti sono evidenziabili solo per mezzo di speciali colorazioni; infatti nelle sezioni ottenute sia da inclusione in paraffina sia da inclusione in metacrilato e colorate con Em-Eos i melanociti si possono riconoscere perché si presentano in forma di piccoli elementi cellulari rotondeggianti con nucleo piccolo fortemente colorato e con citoplasma chiaro a seguito di coartazione. Per questo i melanociti vengono definiti "cellule chiare dello strato basale". Comunque è bene specificare che non tutte le cellule chiare (sia dello strato basale che, e soprattutto, degli altri

strati) sono melanociti poiché occasionalmente altre cellule possono venire coartate nel corso di preparazione dei provini.

E' bene specificare che il metodo istochimico ottimale per mettere in evidenza i melanociti è la Dopa-reazione di Bloch applicata su sheet di epidermide opportunamente scollata dal derma mediante tripsinizzazione.

In tal maniera è possibile mettere in evidenza sul tessuto non fissato, le cellule che possiedono l'enzima tirosinasi, cioè unicamente i melanociti.

E' anche bene sottolineare che sarebbe stato opportuno praticare su sezioni seriate a quelle in cui è stata fatta la colorazione per la dimostrazione dell'argentaaffinità delle melanine una decolorazione delle stesse con agenti ossidanti (per esempio acqua ossigenata al 10%) per ottenere una ulteriore conferma della presenza del pigmento. Infatti gli altri pigmenti eventualmente presenti rimarrebbero inalterati dall'azione dell'agente ossidante per cui si avrebbe una ulteriore conferma che il caratteristico colore nero-bruno dei granuli è effettivamente dovuto alla presenza di melanine.

Caso 1 -(maschio -24 anni- dorso mano sinistra)

Sono stati allestiti i seguenti vetrini inclusi in:

- 1) Paraffina --colorati con : Em-Eos(2) - vedi foto N°1
- " " " M-F (4)- vedi foto N°2
- 2) Metacrilato- colorati con : Em-Eos(2) -
- " " " Ag-Met(4) -vedi foto N°3,4,5,6

Old.1

Notarbartolo & Gervasi

3)Araldite semifine

-vedi foto N°7

I frammenti di cute esaminata sono stati contraddistinti da una epidermide e da un derma dai parametri ortologici.

Sono facilmente riscontrabili le "cellule chiare dello strato basale" in particolar modo nei vetrini inclusi in paraffina e colorati con Em-Eos . Vedi foto N°1(x460).

La foto 2 mostra l'argenta affinità dei pigmenti di melanina; che sono meglio evidenziabili nei preparati inclusi in metacrilato ed esattamente nelle foto 3 (x460), 4 (x730), 5 (x460) e 6 (x730) e che sfruttano la metodica facente uso di una soluzione di Argento esametilendiammina(Ag-Met).

La foto N°7 mostra il campo prescelto per l'indagine ultrastrutturale; colorata con blu di metilene e safranina (x460).

Caso 2 (femmina -18 anni -dorso mano sinistra(?))

Sono stati allestiti i seguenti vetrini inclusi in:

1) Paraffina --colorati con : Em-Eos(2)

" " " M-F (4)- vedi foto N°8 e 9

2)Metacrilato- colorati con : Em-Eos(2) - vedi foto N°11

" " " Ag-Met(4) -vedi foto N°10 e 12

3)Araldite semifine

-vedi foto N°13

Cute normale nei suoi parametri . Nei provini è facile scorgere "cellule chiare dello strato basale" interpretabili per lo più come cellule melanocitarie . La presenza di granuli di melanina è confermata con la metodica istochimica di Masson

Fontana all'argento ammoniacale debolmente controcolorata .Vedi foto 8(x460).

Così nelle figure 10 e 12 dei provini inclusi in metacrilato evidenziano l'argentaaffinità della melanina con la metodica facente uso di una soluzione di argento esamentilendiammina(Ag-Met) e rispettivamente x460, e x1840.

La foto N° 13 mostra il campo prescelto per l'indagine ultrastrutturale al microscopio elettronico.

Caso 3 (femmina- 14 anni -dorso mano sinistra

Sono stati allestiti i seguenti vetrini inclusi in :

1) Paraffina --colorati con : Em-Eos(2)

" " " M-F (4)

2)Metacrilato- colorati con : Em-Eos(2) - vedi foto N°16

" " " Ag-Met(4) -vedi foto N°14 e 15

3)Araldite semifine -vedi foto N°17

Nel contesto di un quadro di cute normale non vi è nulla da segnalare nei preparati allestiti con le comuni colorazioni vedi per esempio fig 16, (x 460), al contrario nelle sezioni trattate con metodica istochimica per evidenziare l'argent'affinità dei granuli di melanina è nettamente presente un orletto nerastro continuo che tinge tutte le cellule dello strato basale come è dimostrato nelle fotografie 14(x460) e 15 (x1840) .

La foto 17 mostra il campo di indagine scelto per la microscopia elettronica.

Caso 4 (femmina -33 anni- dorso mano sinistra)

Sono stati allestiti i seguenti vetrini inclusi in:

- 1) Paraffina --colorati con : Em-Eos(2)-vedi foto N°20
" " " M-F (4)-vedi foto N°18 e 19
- 2)Metacrilato- colorati con : Em-Eos(2) -
" " " Ag-Met(4)

- 3)Araldite semifine -vedi foto N°21

Nel contesto di una cute dai parametri normali numerose appaiono "le cellule chiare dello strato basale" nei preparati in paraffina, colorati con Em-Eos(vedi foto n°20, x730) e in quelli colorati con il metodo Masson Fontana. In questi ultimi è altresì ben evidente che la argentea affinità dei granuli di melanina presenti in gran numero negli strati profondi dell'epidermide (vedi foto 18 x730 e 19x 730).

La foto N°21 mostra il campo scelto per l'indagine al microscopio elettronico.

Caso 5 (maschio- 43 anni-(dorso mano sinistra)

Sono stati allestiti i seguenti vetrini inclusi in :

- 1) Paraffina --colorati con : Em-Eos(2)-vedi foto N°24
" " " M-F (4)-vedi foto N°22 e 26
- 2)Metacrilato- colorati con : Em-Eos(2) -vedi foto N°27
" " " Ag-Met(4) -vedi foto N°28
- 3)Araldite semifine -vedi foto N°32

In tutti i vetrini si osserva una cute dai parametri normali. In modo particolare nei campioni inclusi in paraffina sono evidenti

le cellule chiare dello strato basale sia con Em-Eos (vedi foto N°24) sia con l'Ag ammoniacale (metodo Masson Fontana), come si può notare dalla foto N°26. Nella foto N° 22 è stata eseguita una controcolorazione molto tenue al fine di mettere in risalto il colore bruno nero dei pigmenti melaninici in grado di ridurre i sali di argento . Quest'argent'affinità è qui documentata anche dalla foto N°27 e 28 in preparati inclusi in metacrilato.

La foto N° 32 mostra il campo di indagine scelto per la in microscopia elettronica.

L'indagine morfologica sopra descritta condotta su campioni di pelle vitiliginosa prelevati nei pazienti a soli tre mesi dall'inizio del trattamento ha evidenziato i seguenti quadri:

- Presenza di "cellule chiare dello strato basale" nei preparati inclusi in paraffina e colorati con Em-Eos.
- intensa argent'affinità dei pigmenti di melanina riscontrabile sia nei preparati inclusi in metacrilato e trattati con argento esametildiammina sia nei melanociti che nei cheratinociti,
- presenza dei granuli di melanina nei preparati inclusi in paraffina e trattati con la metodica istochimica di Masson Fontana all'argento ammoniacale.
- parametri cutanei normali : in particolare assenza di fenomeni di acantosi, e ipercheratosi, normalmente riscontrati a carico della cute dei pazienti trattati con le metodiche tradizionali.

RIVENDICAZIONI

1. Composizioni farmaceutiche per uso topico per il trattamento

della vitiligine costituite da un olio di origine animale o dal corrispondente estere alchilico, scelto tra olio di fegato di merluzzo, olio di visone, olio di tartaruga o loro miscele contenenti dispersi o disciolti in essi i seguenti metalli:

litio, rame, zinco ed eventualmente oro ed argento.

2. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1, caratterizzate dal fatto che contengono anche i metalli oro ed argento.

3. Le composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1 e 2 caratterizzate dal fatto che i metalli sono presenti nelle composizioni farmaceutiche, sotto forma di sali, di complessi o di metalli colloidali.

4. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 3 caratterizzate dal fatto che i metalli sono presenti sotto forma dei seguenti sali: solfato di rame, lattato di argento, solfito di oro e sodio, solfato o gluconato di zinco di litio e di rame.

5. Le composizioni farmaceutiche per il trattamento della vitiligine secondo la rivendicazione 1, dove la concentrazione dei metalli nell'olio o nella miscela oleosa è compresa nei seguenti intervalli:

Zn $7 \cdot 10^{-4}$ - 0.387 mg/ ml di olio o di miscela oleosa,

Li 10^{-4} - 6.2 mg/ ml di olio o di miscela oleosa,

Cu 10^{-6} - 0.264 mg /ml di olio o di miscela oleosa,

Au $3 \cdot 10^{-8}$ - $3.5 \cdot 10^{-3}$ mg/ml di olio o di miscela oleosa,

Ag $3 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-3}$ mg/ml di olio o di miscela oleosa,

6. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 5 caratterizzate dal fatto che la concentrazione dello zinco è compresa tra 10^{-3} e $7.7 \cdot 10^{-2}$ mg/ml di olio o di miscela oleosa, la concentrazione del litio è compresa tra $1.5 \cdot 10^{-3}$ e 10^{-2} mg/ml di olio o di miscela oleosa, la concentrazione del rame è compresa tra 10^{-5} e $5 \cdot 10^{-4}$ mg/ml di olio o di miscela oleosa, la concentrazione dell'oro è compresa tra $2 \cdot 10^{-6}$ e $4 \cdot 10^{-5}$ mg/ml, la concentrazione dell'argento è compresa tra 10^{-6} e 10^{-4} mg/ml.

7. Le composizioni farmaceutiche per il trattamento della vitiligine secondo la rivendicazione 1 caratterizzate dal fatto che i metalli vengono dispersi o disciolti nella miscela dei tre olii :olio di fegato di merluzzo, olio di tartaruga, olio di visone.

8. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 7 in cui i tre olii sono presenti tra di loro in rapporto volumetrico 1:1:1.

9. Le composizioni farmaceutiche per il trattamento della vitiligine secondo la rivendicazione 1, caratterizzate dal fatto che i metalli vengono dispersi negli esteri alchilici degli olii di visone, di tartaruga e di fegato di merluzzo.

10. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 9 caratterizzate dal fatto che i metalli vengono dispersi o disciolti negli esteri etilici dell'olio di visone, dell'olio di

fegato di merluzzo, e dell'olio di tartaruga.

11. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1 caratterizzate dal fatto che i metalli sottoforma di sali, di complessi o di colloidi vengono aggiunti all'olio o alla miscela dei suddetti olii sottoforma di una soluzione acquosa.
12. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 11 caratterizzate dal fatto che la soluzione acquosa è presente in concentrazioni comprese tra il 3 e l'8 % in volume rispetto al volume totale della composizione.
13. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 12 caratterizzate dal fatto che la soluzione acquosa è presente in concentrazioni del 5% in volume rispetto al volume totale della composizione.
14. Le composizioni farmaceutiche secondo una delle precedenti rivendicazioni caratterizzate dal fatto che sono sotto forma di unguenti oppure di pomate.
15. Le composizioni farmaceutiche secondo una delle precedenti rivendicazioni caratterizzate dal fatto che contengono altri elementi oltre ai metalli rame litio zinco oro argento.
16. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 15 caratterizzata dal fatto che contengono come ulteriori elementi lo zolfo, il silicio ed il selenio.
17. Le composizioni farmaceutiche secondo una delle precedenti rivendicazioni caratterizzate dal fatto che contengono altri componenti scelti tra olio di vaselina olio cocco raffinato,

Old.1

Notarbartolo & Gervasi

eccipienti, tensioattivi.

(ASE/tg)

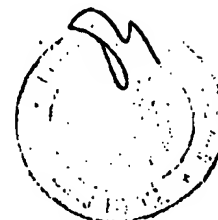
Milano li 06 DIC. 1990

p. MAROLDA LUCA
e
RIGHI PATRIZIA

Il Mandatario


DR. GEMMA GERVASI della

NOTARBARTOLO & GERVASI S.r.l.



CASO 1 (24 anni Maschio)

Notarbartolo & Cervasi
NOTARBARTOLO & CERVASI S.R.L.

FOTO 1 (paraffina colorata con Em-Eos)(X460)

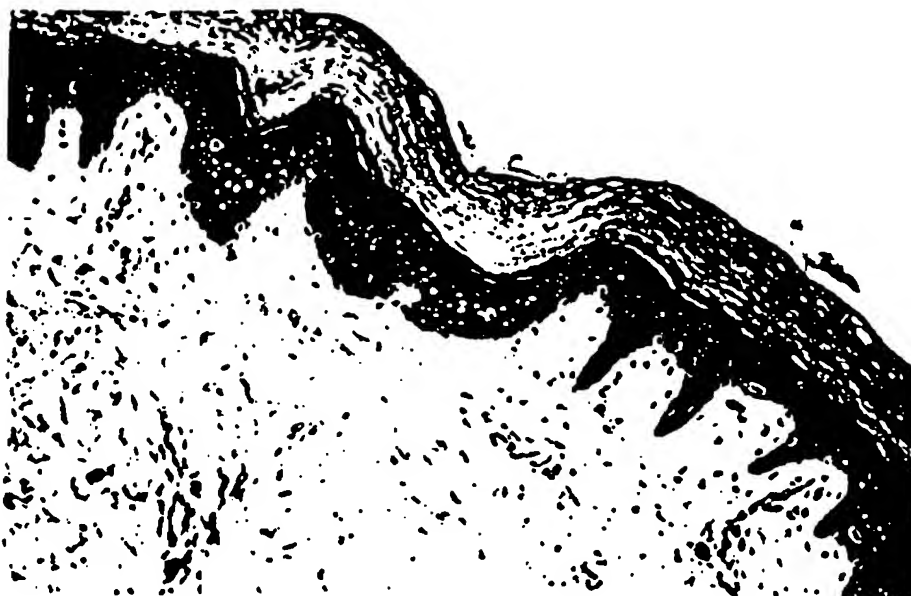
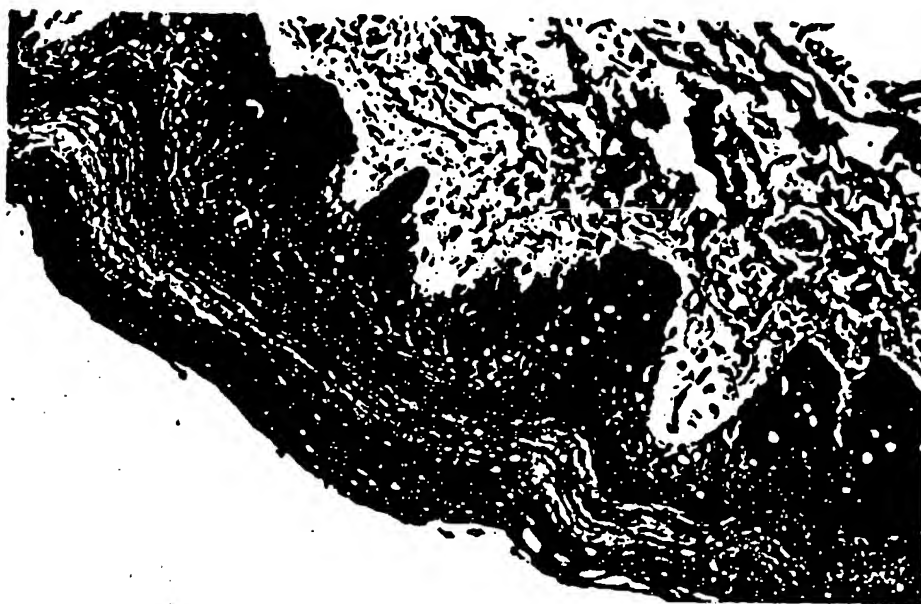


FOTO 2 (paraffina colorata secondo M-F)(X730)

22309A/90



CONTINUA CASO 1

Notarbartolo & Gervasi
NOTARBARTOLO & GERVASI S.R.L.

FOTO 3 -(Metacrilato colorati con Ag-Met)(X460)

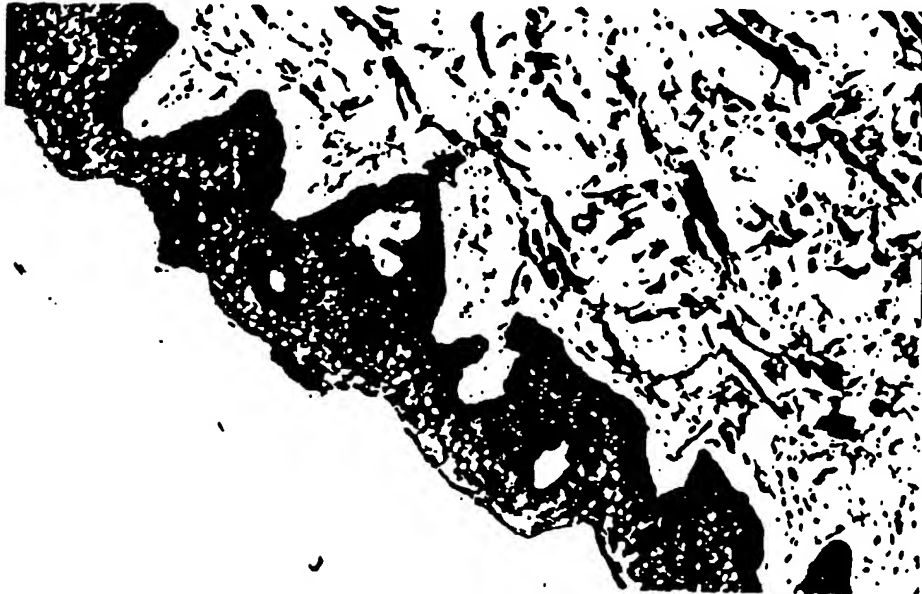
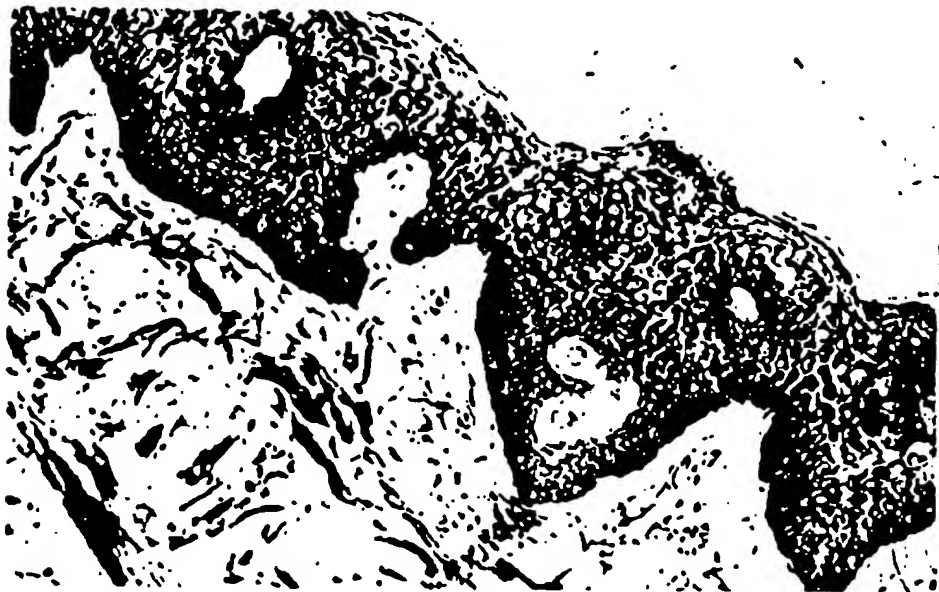


FOTO 4 (Metacrilato colorati con Ag-Met)(X730)

223061/90



CONTINUA CASO 1

Notarbartolo & Cervasi
NOTARBARTOLO & CERVASI S.R.L.

FOTO 5 (Metacrilato colorati con Ag-Met)(X460)

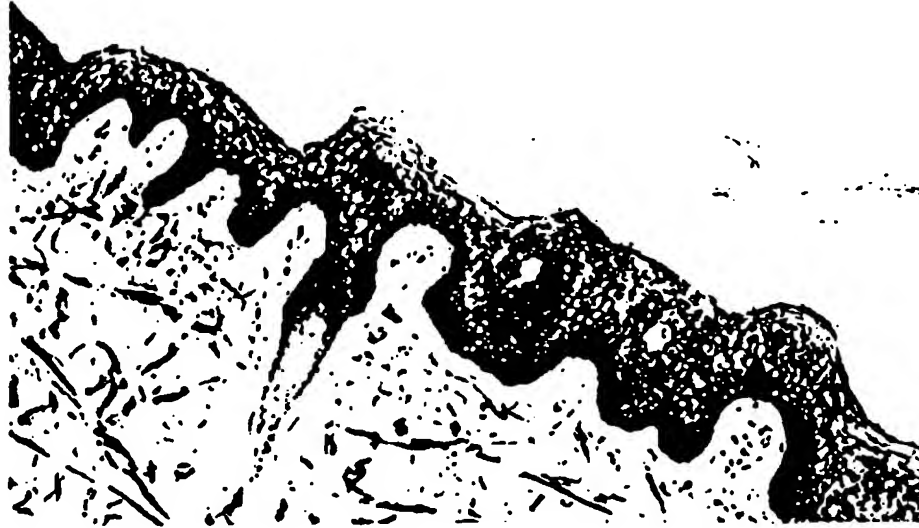
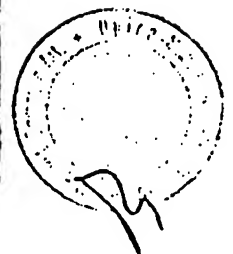
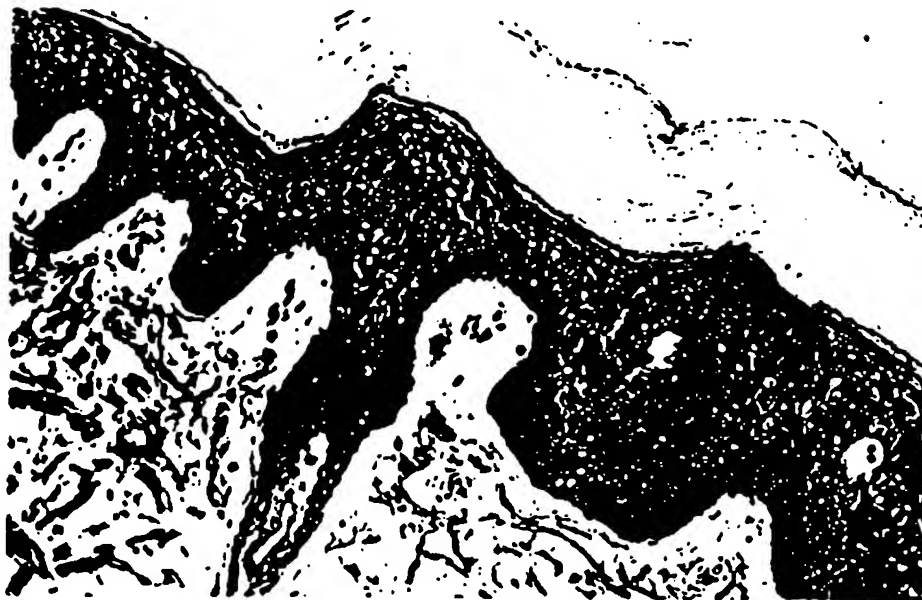


FOTO 6 (Metacrilato colorati con Ag-Met)(X730)

22309A/90



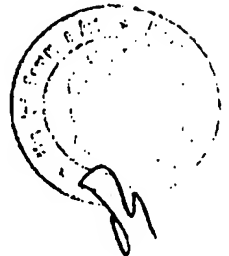
CONTINUA CASO 1

Notarbartolo & Gervasi
NOTARBARTOLO & GERVASI S.R.L.

FOTO 7 (Araldite semifine) colorata con blu di metilene e
Safranina)(X460)



22309A/90



CASO 2 (Femmina 18 anni)
FOTO 8 (paraffina colorata secondo M-F)(X460)

Giuseppe Gervasi
NOTARBANTOLO & GERVASI S.R.L.

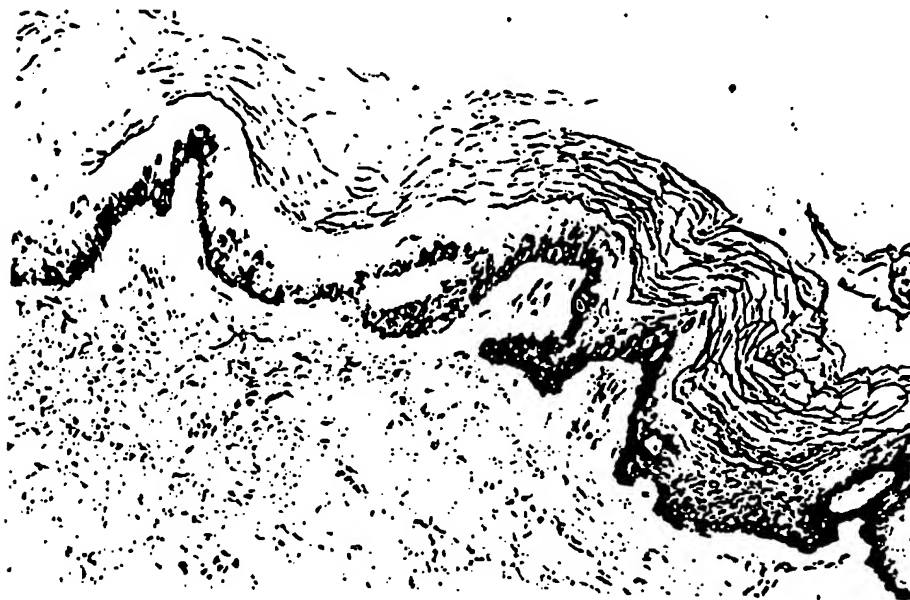
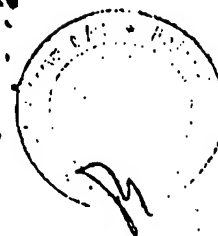


FOTO 9 (paraffina colorata secondo H-F)(X460)

22309A/90



CONTINUA CASO 2

Notario
NOTARIATO & GERVASI S.R.L.

FOTO 11 (Metacrilato-colorati con Em-Eos)(X460)



FOTO 10 (Metacrilato colorati con Ag-Met) X460

2.2309A/90



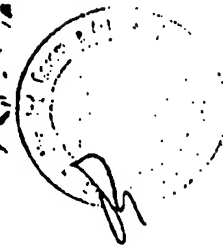
CONTINUA CASO 2

Notar Bartolo & Cervasi
NOTARBARTOLO & CERVASI S.R.L.

FOTO 12 (Metacrilato colorati con Ag-Met)(X1840)



FOTO 13 (Araldite semifine colorata con blu di metilene e Safranina)(X460)



CASO 3 (Femmina 14 anni)

Luigi Cervasi
NOTARIO CIVILE & CERVASI S.R.L.

FOTO 14 (Metacrilato colorato con Ag-Met)(X460)



FOTO 15 (Metacrilato colorato con Ag-Met)(X1840)

223091/90



CONTINUA CASO 3

Notarbartolo
NOTARBARTOLO & CERVASI S.R.L.

FOTO 16 (Metacrilato colorato con Em-Eos)(X460)

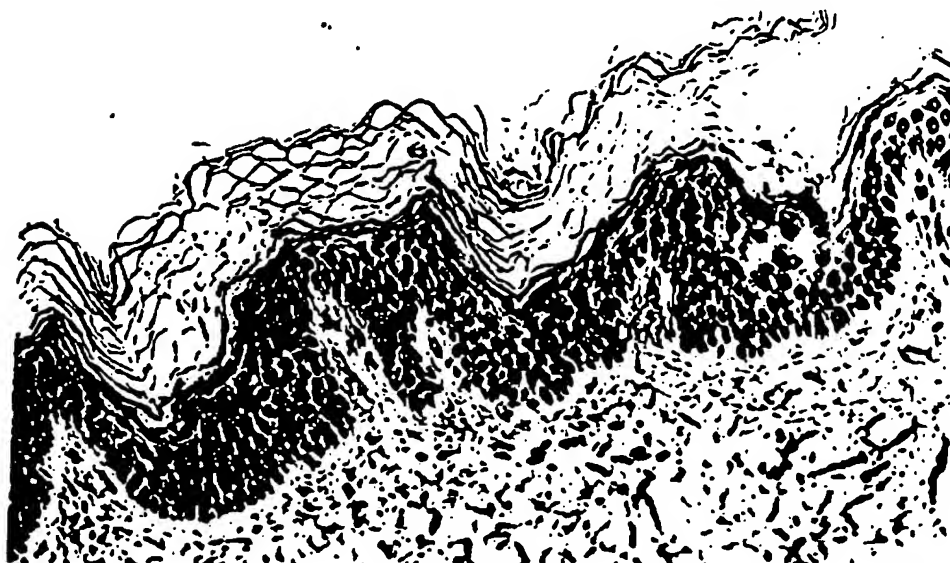
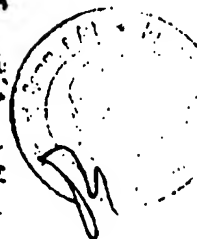


FOTO 17 (Araldite semifine colorata con blu di metilene
e Safranina)(X460)



223091/90



CASO 4 (Femmina 33 anni)

Luigi Cervasi
NOTARCATOLO & CERVASI S.R.L.

FOTO 20 (paraffina colorata con Em-Eps)(X730)

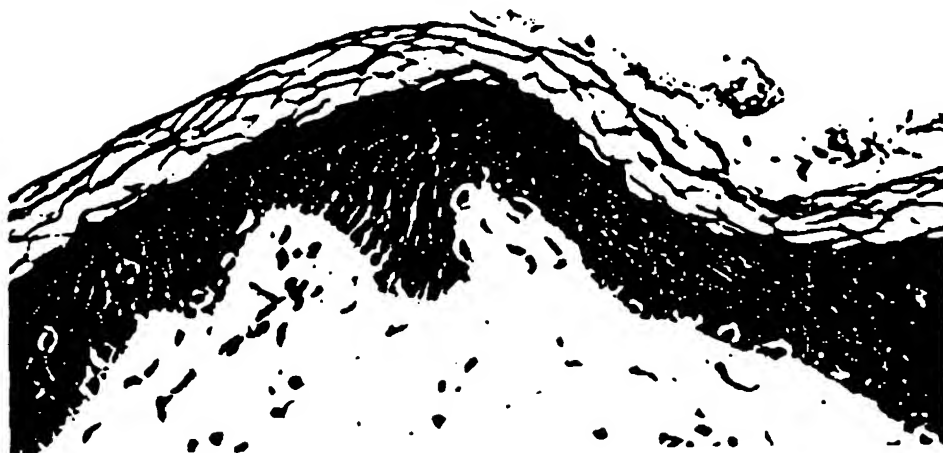
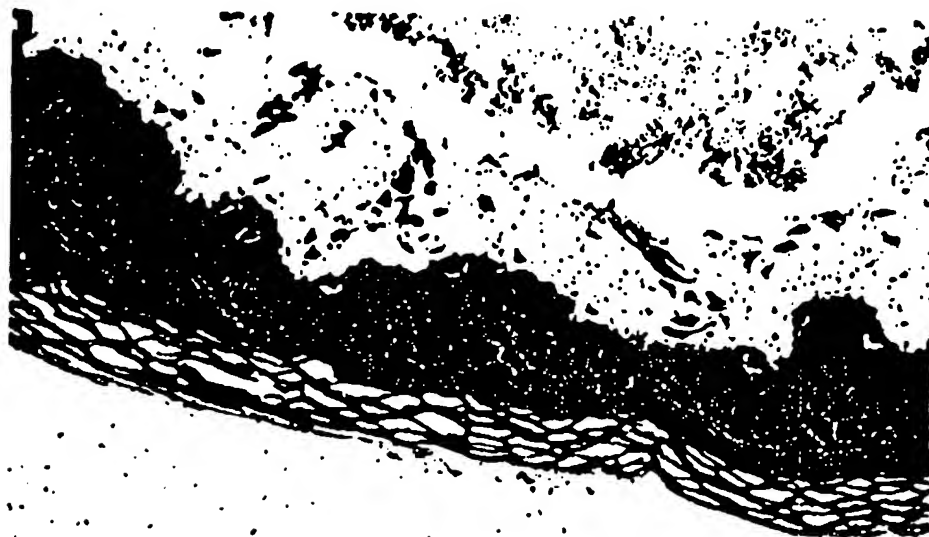


FOTO 18 (paraffina colorata secondo M-F)(X730)

22309A/90



CONTINUA CASO 4

NOTARBARTO
NOTARBARTO 2 GERVASI S.R.L.

FOTO 19 (paraffina colorata secondo M-F)(X730)

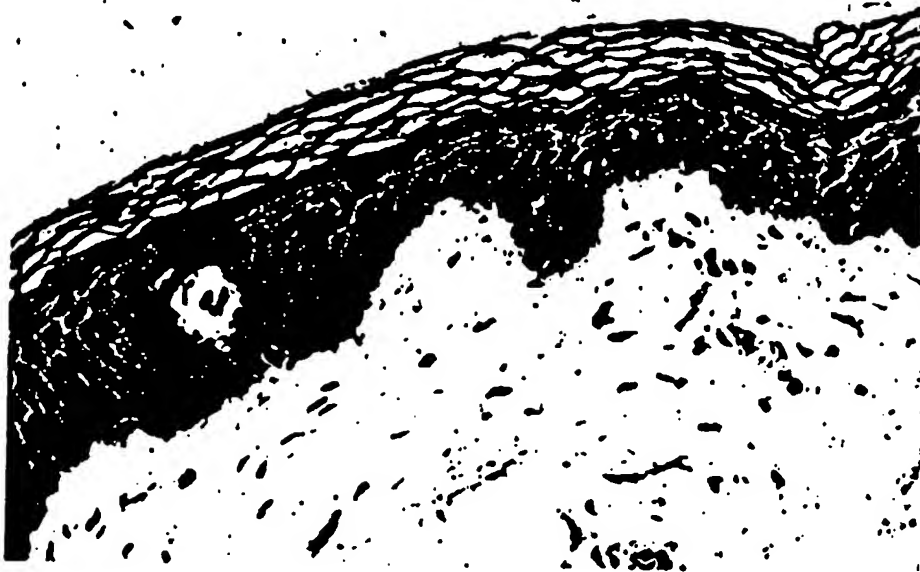
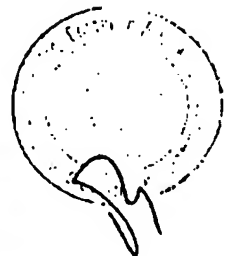
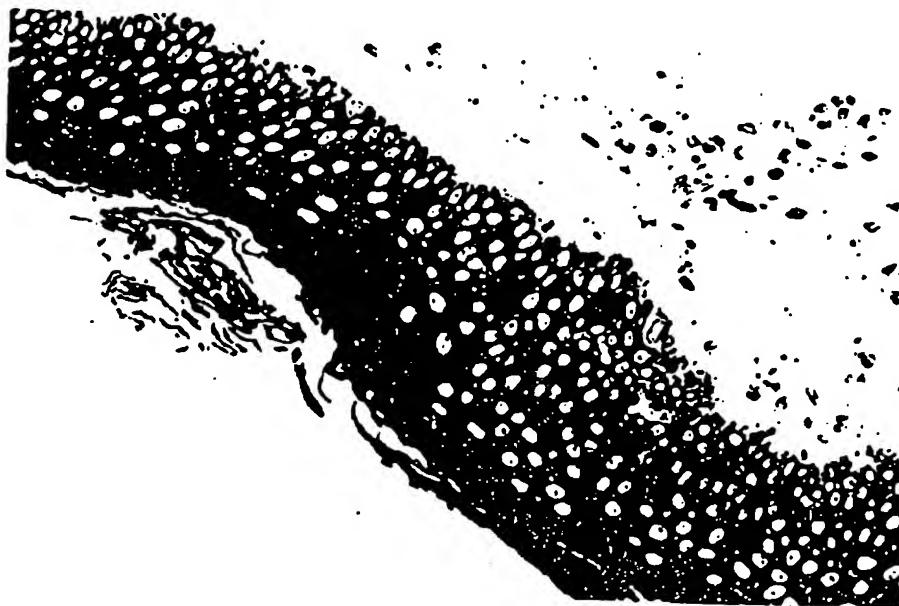


FOTO 21 (araldite semifine colorata con blu di metilene e Safranina) (X730)

22309A/90



Am
~~NOTARDARTOLO & CERVASI S.R.L.~~

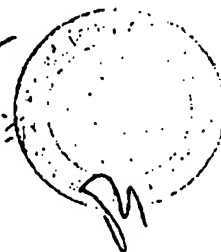
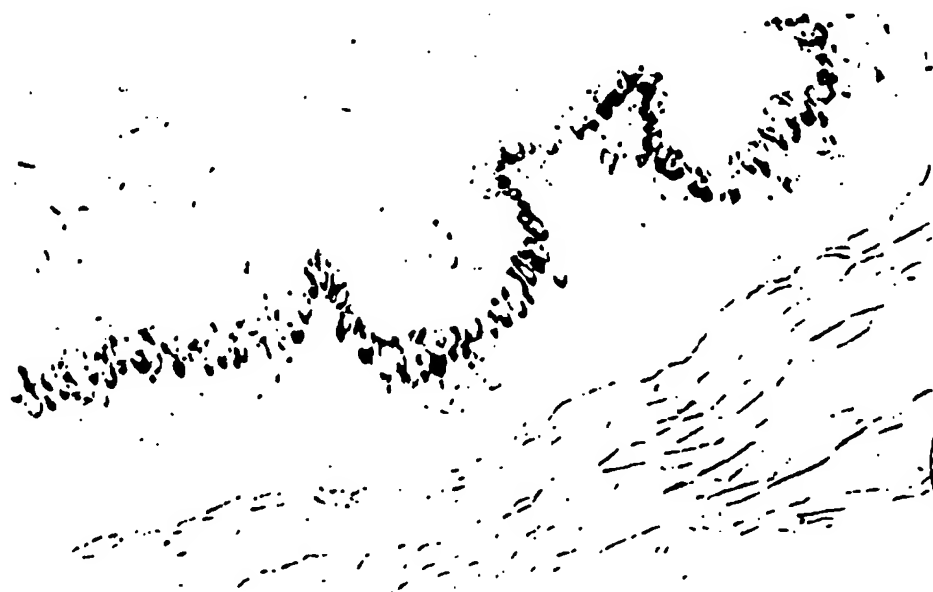
CASO 5 (43 anni Maschio)

FOTO 24 (paraffina colorati con Em-Eos)(X460)



FOTO 22 (paraffina colorati secondo M-F)(X730)

22309A/90



CONTINUA CASO 5

FOTO 26 (paraffina colorati con M-F)(X460)

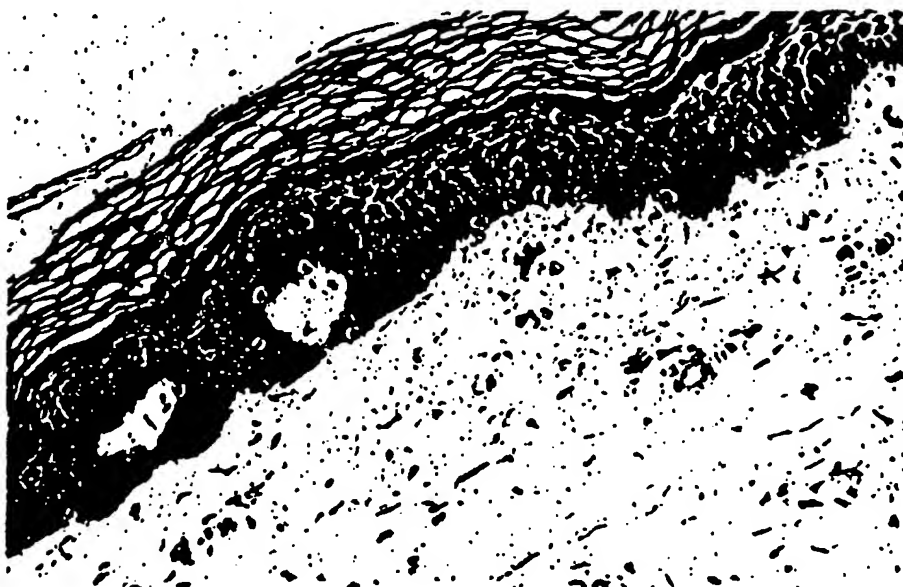


FOTO 27 (metacrilato colorati con Em-Eos)(X460)

2 2309 A/90



CONTINUA CASO 5

Luigi Cervasi
NOTAR DARTOLC 2 CERVASI S.R.L.

FOTO 28 (metacrilato colorato con Ag-Met)(X460)



FOTO 32 (araldite semifine colorata con blu di metilene e Safranina)(X460)



22309A/90

